estructuras citoplasmáticas, las cuales devienen plaquetas vitelinas.

La gran plasticidad de la superficie del núcleo, permite que este ocupe una extensión considerable de la célula y, como es habitual en los oocitos, origine agrupaciones de láminas anilladas, las cuales en este caso pueden formarse también a partir del retículo endoplasmático rugoso.

Las láminas anilladas son formaciones relativamente frecuentes en el citoplasma de los oocitos (KESSEL, 1963, 1968, 1981) y también en algunas células somáticas (OLLERICH Y CARLSON 1970; SUN, 1979; ALLEN, 1990), y su origen es variable. Uno de los posibles orígenes es a partir del retículo endoplasmático rugoso (KESSEL 1985, 1990; ANDREUCCETTI Y TADDEI, 1990). De esta manera se forman en los oocitos de algunas especies de moluscos poliplacóforos (DURFORT, 1976). En otros casos posiblemente provengan de la envoltura nuclear (KESSEL, 1973), tal como se observa en los oocitos de *Mytilus edulis* (DURFORT, 1973b). En los oocitos de *Tapes decussatus*, el origen es doble según las imágenes descritas. En cuanto a su función, una de las hipótesis plausibles es que se trate de una reserva de envoltura nuclear para las posteriores divisiones celulares.

Los oocitos de *Tapes decussatus* presentan la morfología característica de una célula altamente sintetizadora: matriz extracelular fibrosa constituyendo la membrana vitelina y surcada de numerosos microvilli emitidos por el oolema, citoplasma muy rico en retículo endoplasmático rugoso y con abundantes plaquetas vitelinas y núcleo altamente lobulado y por consiguiente con una gran superficie que, además de asegurar el intercambio núcleo-citoplasma, se incorpora de forma estructural al proceso de la vitelogénesis.

## BIBLIOGRAFÍA


ALLEN, E. D., 1990. Pores of annulate lamellae and nuclei bind wheat germ agglutinin and monoclonal antibody similarly. *Journal of Structural Biology*, 103: 140-151.

ANDERSON, E. Y BEAMS, H. W., 1956. Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, Supplement 2: 439-444.

ANDRÉ, J., 1962. Contribution à la connaissance du chondriome pendant la spermatogénèse. *Journal of Ultrastructure Research*, Supplement 2: 439-444.

ANDREUCCETTI, P. Y TADDEI, C., 1990. Ribosomal bodies and annulate lamellae in the oocytes of the lizard *Podarcis sicula*. *Cell Tissue Research*, 259: 475-478.

AZEVEDO, C., 1984. Development and ultrastructural autoradiographic studies of nucleolus-like bodies (nuages) in oocytes of a viviparous teleost (*Xiphophorus helleri*). *Cell Tissue Research*, 238: 121-128.

BOLOGNARI, A., 1957. Ricerche sugli ovociti in accrescimento di *Mytilus galloprovincialis* Lamk (Moll. Lam. Fil.). *Archivo Zoologico Italiano*, 42: 229-248.

BOZZO, M. G. 1984. Els gràsnuls corticals en els oòcits de *Terebratula vitrea* (Brachiopoda). *Biologia del Desenvolupament*, 2: 95-100.

BUSSON-MABILLOT, S., 1984. Endosomes transfer yolk proteins to lysosomes in the vitellogenic oocyte of the trout. *Biology of the Cell*, 51: 53-66.

CAPLET, J., 1981. Étude ultrastructurale des "corps acidophiles" des ovocytes d'un myriapode. Résultats préliminaires. *Biology of the Cell*, 42: 197-200.

CLEROT, J., 1968. Mise en évidence par cytochimie ultrastructurale l'emission de proteines par le noyau d'auxocites de batraciens. *Journal de Microscopie*, 7: 973-992.

DORANGE, G., PAULET, Y. M., LE PENNEC, M. Y COCHARD, J., 1989. Critères histologiques d'evaluation de la qualité des ovocytes émis par *Pecten maximus* (Mollusque Bivalve). *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de Paris*, 309: 113-120.

DURFORT, M., 1973a. *Ultraestructura de la gónada femenina de algunos moluscos*. Tesis Doctoral. Publicaciones Universidad de Barcelona. 16 pp.

DURFORT, M., 1973b. Sur la formation des lamelles annelées dans les ovocytes de *Mytilus edulis* L. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de Paris*, 276: 3176-3180.

DURFORT, M., 1976. Relation entre les lamelles annelées et le réticulum endoplasmique granulaire dans les ovocytes de *Trachydermon cinereus* Thiele (Mollusque, Polyplacophore). *Annales des Sciences naturelles Zoologie et Biologie Animale*, 18: 449-457.

DURFORT, M., 1979. Alteraciones ultraestructurales en células germinales femeninas de *Mytilus edulis (L.), en condiciones anómalas*. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, 77: 199-212.

DURFORT, M., BARGALLÓ, R., BOZZO, M. G., FONTARNAU, R. Y LÓPEZ CAMPS, J. 1982. Alterations des ovocytes de *Mytilus edulis*, L. dues a l'infestation de la moule par *Mytilicola intestinalis* Steuer (Crustacea, Copepoda). *Malacologia*, 22: 55-59.

DURFORT, M., BOZZO, M. G., FERRER, J., GARCÍA VALERO, J., POQUET, M., RIBES, E. Y SAGRISTA, E., 1991a. Alteracions de la gónada de l'ostra *Crassostrea gigas* motivades per la presència d'esporocits de *Bucephallus haimeanus* (Tremàtode, Digènid). *Biologia del Desenvolupament*, 9: 129-145.

DURFORT, M., FERRER, J., SAGRISTA, E., POQUET, M., BOZZO, M. G., GARCÍA VALERO, J. Y RIBES, E., 1991b. Alteraciones tisulares en la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) debidas a la presencia de esporocistos de *Bucephalus haimeanus* (Tremátodo Digénido). *Histologia Medica*, 7: 61-62.

EDDY, E. M., 1974. Fine structural observations on the form and distribution of nuage in germ cells of the rat. *Anatomical Record*, 178: 731-758.

FOWLER, B. A., WOLFE, D. A. Y HETTLER, W. F., 1975. Mercury and iron uptake by cytosomes in mantle epithelial cell of quahog clams (*Mercenaria mercenaria*) exposed to mercury. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 1767-1775.

GURAYA, S. S., 1982. Recent progress in the structure, origin, composition, and function of cortical granules in animal egg. *International Review of Cytology*, 78: 257-360.

KESSEL, R. G., 1963. Electron microscope studies on the origin of annulate lamellae in oocytes of *Necturus*. *Journal of Ultrastructure Research*, 19: 391-414.

KESSEL, R. G., 1968. Annulate lamellae. *Journal of Ultrastructure Research*, Supplement 10: 1-82.

KESSEL, R. G., 1973. Structure and function of the nuclear envelope and related cytomembranes. En Danielli, J. F., Rosenberg, M. D. y Cadenhead, D. A. (Eds.): *Progress in Surface and Membrane Science*. Academic Press, New York, 6: 243-329.

KESSEL, R. G., 1981. Annulate lamellae and polyribosomes in young oocytes of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Submicroscopic Cytology*, 13: 231-252.

KESSEL, R. G., 1985. Annulate lamellae (porus cytomembranes): with particular emphasis on their possible role in differentiation of the female gamete. En Browder, L. W. (Ed.): *Developmental Biology*. Plenum Publishing. New York, 1: 179-233.

KESSEL, R. G., 1990. A novel and transient structure associated with annulate lamellae morphogenesis: the *Necturus* oocyte revisited. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 22: 551-564.

MEDHIOUB, N. M. Y LUBET, P. E., 1988. Recherches cytologiques sur l'environement cellulaire ("tissu de réserve") des gonades de la Palourde *Ruditapes philippinarum* Adams et Reeve), Mollusques bivalves. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*, 9: 87-102.

MICALLEF, S. Y TYLER, P. A., 1988. Intrafollicular hermaphroditism in the marine mussel, *Mytilus edulis*, L. *International Journal of Invertebrate Reproduction and Development*, 14: 47-52.

NOTT, J. A., 1991. Cytology of pollutant metals in marine invertebrates: A review of microanalitical applications. *Scanning Microscopy*, 5: 191: 205.

OLLERICH, D. Y CARLSON, E., 1970. Ultrastructure of intranuclear annulate lamellae in giant cells of rat placenta. *Journal of Ultrastructure Research*, 30: 411-423.

PIPE, R. K., 1987. Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an structural study. *Marine Biology*, 95: 405-414.

POQUET, M., BOZZO, M. G., SAGRISTA, E. Y DURFORT, M., 1992. X-ray microanalysis (XRMA) and ultrastructural localization by SEM and Stem of Fe, Cu, Zn, and Hg in epithelial cells of Mollusca bivalvia. *Electron Microscopy*, EUREM 92, Granada, 1: 361-362.

RAVEN, C. P., 1966. *Morphogenesis: the analysis of Molluscan development*. 337 pp. Oxford: Pergamon Press.

REYNOLDS, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17: 208-212.

SCHUEL, H., 1978. Secretory Functions of Egg Cortical Granules in fertilization and development: A Critical Review. *Gamete Research*, 1: 299-382.

SPURR, A. R., 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 26: 36-43.

SOUSA, M. Y AZEVEDO, C., 1988. Ultrastructural and histochemical observations of the cortical reaction in *Marthasterias glacilis* (Echinodermata, Asteroidea). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 20: 629-633.

SUN, C. N., 1979. Annulate lamellae in tumor cells. *Tissue & Cell*, 11: 139-146.

WALLACE, R. A. Y SELMAN, K., 1990. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopy*, 16: 175-201.

WESSEL, G. M., 1989. Cortical granule-specific components are presents within oocytes and accesory cells during sea urchin oogenesis. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 9: 1409-1420.

Recibido el 29-IV-1993
Aceptado el 9-IX-1993

*IBERUS*, 14 (2): 189-195, 1996

# Alteraciones histopatologicas producidas por *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) en dos especies de *Cernuella* (Mollusca) sacrificadas a los tres meses post-infestación

## Histopathological alterations in two species of *Cernuella* (Mollusca) infected by *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) at three months post-infection

Benjamín J. GÓMEZ*, Yolanda MANGA**, Eduardo ANGULO*** y Camino GONZÁLEZ**

RESUMEN

Se han estudiado mediante microscopía óptica las alteraciones histopatológicas producidas por el trematodo hepático *Dicrocoelium dendriticum*, en la glándula digestiva y en la gónada de dos especies de moluscos hospedadores intermediarios, pertenecientes al género *Cernuella*, infestadas experimentalmente y mantenidas en condiciones de laboratorio hasta su sacrificio a los 3 meses post-infestación. Se ha constatado la presencia de esporocistos secundarios de *D. dendriticum* en ambas especies de moluscos sometidos a infestación, con un mayor nivel de parasitación en *C. cespitum arigonis* que en *C. virgata*. Asociados a la presencia del parásito se observa una infiltración hemocítica, una vacuolización de las células de calcio y un aumento de lipofuscinas en las células digestivas. Además, en *C. cespitum arigonis* llega a producirse una casi total castración parasitaria.

ABSTRACT

The histopathological alterations produced by the hepatic trematode *Dicrocoelium dendriticum* in the digestive gland and gonad of two species of intermediate host molluscs of the genus *Cernuella* were studied by light microscopy. Animals were experimentally infected and kept under laboratory conditions, then killed 3 months post-infection. Secondary sporocysts of *D. dendriticum* are evident in the experimentally infected specimens of both species. The infection degree is greater in *C. cespitum arigonis* than in *C. virgata*. Hemocytic infiltration, as well as calcium cell plasm vacuolisation and an increase of digestive cell lipofuscines are associated with the presence of the parasite. Besides, there is a great parasitic castration in *C. cespitum arigonis*.

PALABRAS CLAVE: *Cernuella*, Gastropoda, Moluscos hospedadores intermediarios, *Dicrocoelium*, Dicrocoeliidae, Trematoda, Histopatología.

KEY WORDS: *Cernuella*, Gastropoda, intermediate host Molluscs, *Dicrocoelium*, Dicrocoeliidae, Trematoda, Histopathology.

* Dpto. Biología Animal y Genética; ***Depto. Biología Celular y Ciencias Morfológicas, Fac. Ciencias, Univ. País Vasco. Apdo 644, 48080 Bilbao.

** Parasitología Animal, Estación Agrícola Experimental, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, (C.S.I.C.), Apdo. 788, 28040 León.

## INTRODUCCIÓN

Desde hace años se están realizando en la Estación Agrícola Experimental del C.S.I.C., León, estudios sobre el comportamiento de *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899, y de sus hospedadores (definitivos e intermediarios) en el proceso de la transmisión parasitaria, tanto en condiciones naturales como experimentales. Este parásito está muy extendido en los rumiantes de la provincia de León (RÍO-LOZANO, 1967; MANGA, GONZÁLEZ-LANZA Y DEL POZO, 1991) y en los de la mayor parte de la Península Ibérica (CORDERO *ET AL.*, 1980). De acuerdo con SOULSBY (1968), la enfermedad producida por dicho trematodo hepático, que recibe el nombre de dicroceliosis, es muy frecuente en ovinos y bovinos de Europa, Asia y América.

Aunque son numerosas las especies de moluscos que han sido citadas como hospedadores intermediarios (H. I.) de *D. dendriticum* en todo el mundo (MANGA, 1983; ALUNDA, 1984), son muy escasos los estudios histopatológicos realizados en moluscos infestados con este parásito (MATTES, 1936; BADIE, HOURDIN Y RONDELAUD, 1992). Por ello, creímos conveniente abordar una serie de estudios histopatológicos en caracoles infestados experimentalmente, y que pertenecen a especies que actúan como primeros H. I. de *D. dendriticum* en la naturaleza (MANGA, 1992). Para iniciar dichos estudios elegimos, por una parte, la especie *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis* (Schmidt, 1853), importante en la epidemiología de la dicroceliosis en nuestra región por su amplia distribución y abundancia (MANGA, 1983) y, por otra parte, *Cernuella (Cernuella) virgata* (Da Costa, 1778) cuya presencia es más escasa. Es la primera vez que se estudian las alteraciones histopatológicas producidas por las fases larvarias de este trematodo en ambas especies de moluscos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

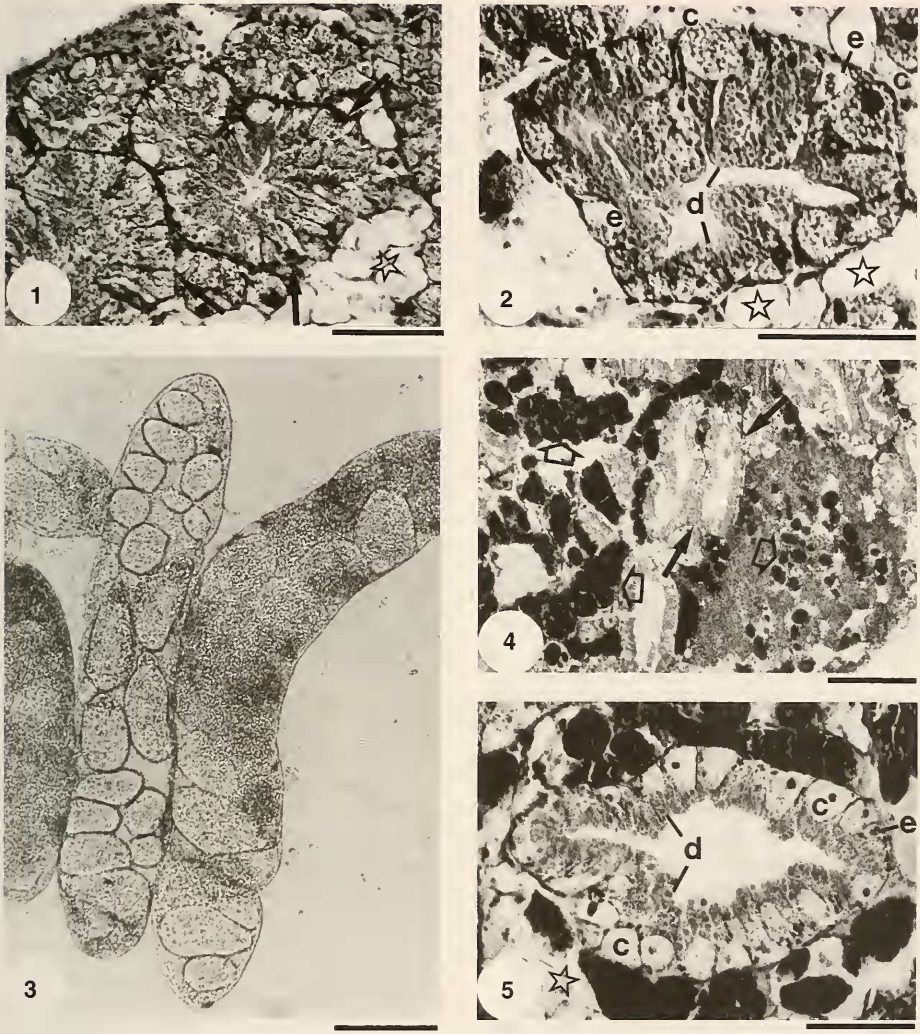
Dos lotes de moluscos, constituidos por 100 ejemplares de *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis* y 100 de *Cernuella (Cernuella) virgata* (Mollusca, Helicidae), se infestaron experimentalmente con 75 huevos de *Dicrocoelium dendriticum* por molusco. Los huevos utilizados habían sido obtenidos recientemente de una oveja infestada experimentalmente con dicho parásito. Después de 5 días de ayuno, los caracoles se mantuvieron individualmente y durante 48 horas en placas de Petri con papel de filtro húmedo, en el que previamente se habían depositado los huevos de *D. dendriticum*. Una vez finalizada la infestación, dichos moluscos se mantuvieron junto con los testigos a 20 °C de temperatura y 40% de humedad relativa, y se alimentaron con lechuga.

Para conocer las alteraciones histopatológicas producidas por el parásito en los caracoles, se sacrificaron 30 ejemplares (15 de cada especie) a los 3 meses post-infestación (p. i.). Los animales fueron procesados conforme a las técnicas rutinarias para estudios histológicos mediante microscopía óptica y se tiñeron con hematoxilina-eosina.

Paralelamente se realizó un estudio morfométrico con la finalidad de cuantificar las variaciones morfológicas de los túbulos digestivos. Para ello se aplicó un procedimiento planimétrico (RECIO, MARIGÓMEZ, ANGULO Y MOYA, 1988) sobre 30 secciones de túbulos digestivos obtenidas por cada animal. Se estudiaron 5 parámetros planimétricos: grosor medio epitelial (Mean Epithelial Thickness, MET), radio medio diverticular (Mean Diverticular Radius, MDR), radio medio luminal (Mean Luminal Radius, MLR) y los cocientes MLR/MET y MET/MDR (SOTO, AGIRREGOIKOA, PÉREZ Y MARIGÓMEZ, 1990).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El epitelio de la glándula digestiva de los animales testigo de ambas especies de moluscos está constituido por tres tipos celulares (Figs. 1, 2). El más abundante corresponde a las células digestivas (o absorbentes); son células altas y de forma prismática, con un pequeño núcleo basal y un citoplasma cargado de numerosas




Figuras 1-5. *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis.* 1: vista general de la glándula digestiva de un testigo. 2: detalle de un túbulo de un testigo, mostrando los tres tipos celulares que conforman su epitelio. 3: esporocistos secundarios de *D. dendriticum* que contienen masas germinales en distinto grado de desarrollo, fotografiados *in vivo* a los 3 meses post-infestación. 4: vista general de la glándula digestiva de un molusco parasitado, con una importante infiltración hemocítica en el cuadrante inferior derecho. 5: detalle de un túbulo de un caracol infestado en el que se aprecia la vacuolización de las células de calcio. Escalas, 1, 2: 100 µm; 3, 5: 50 µm; 4: 200 µm.
Las flechas estrechas señalan los túbulos digestivos; las flechas anchas apuntan al parásito; las estrellas indican las células de Leydig; c: célula de calcio; d: célula digestiva; e: célula excretora.
*Figures 1-5.* Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis. *1: general view of a control specimen digestive gland. 2: detail of a control's tubule, showing the three cellular types of its epithelium. 3:* D. dendriticum *secondary sporocysts, containing germinal masses in different development degrees, photographed* in vivo *three months post-infection. 4: general view of a parasitized mollusc digestive gland, with an important hemocytic infiltration in the lower right part. 5: detail of an infested snail tubule, with visible vacuolization of calcium cells. Scale bars, 1, 2: 100 µm; 3, 5: 50 µm; 4: 200 µm. Narrow arrows show digestive tubules; wide ones the parasite; stars show Leydig cells; c, calcium cell; d: digestive cell; e: secretory cell.*

vesículas. El segundo son las células de calcio, de forma ovalada o triangular, que presentan un núcleo voluminoso situado en la mitad basal de la célula; su citoplasma contiene numerosos gránulos bien definidos. Por último están las células excretoras, más escasas que las anteriores, caracterizadas por la presencia de una gran vacuola central que contiene concreciones de lipofuscina. Por entre la masa de los túbulos digestivos se disponen los acinos gonadales, dentro de los cuales se distinguen los gametos, tanto masculinos como femeninos en distinto grado de diferenciación, así como las células auxiliares. Los espacios existentes entre los túbulos digestivos y entre éstos y los acinos gonadales, están ocupados por tejido conectivo con voluminosas células conjuntivas (células de Leydig), cuya proporción es muy variable entre los individuos de una misma especie (Figs. 1, 2)

El estudio histológico de los moluscos sometidos a infestación experimental, puso en evidencia la presencia de esporocistos secundarios de *D. dendriticum* en todos los ejemplares de *C. cespitum arigonis* examinados, y sólo en 6 de los 15 *C. virgata* investigados. Las fases larvarias del parásito ocupaban entre el 10% y el 50% del volumen total del complejo glándula digestiva-gónada en todos los individuos de la primera especie de molusco, y únicamente invadían el 10% en dos ejemplares (números 1, 2) de la segunda especie.

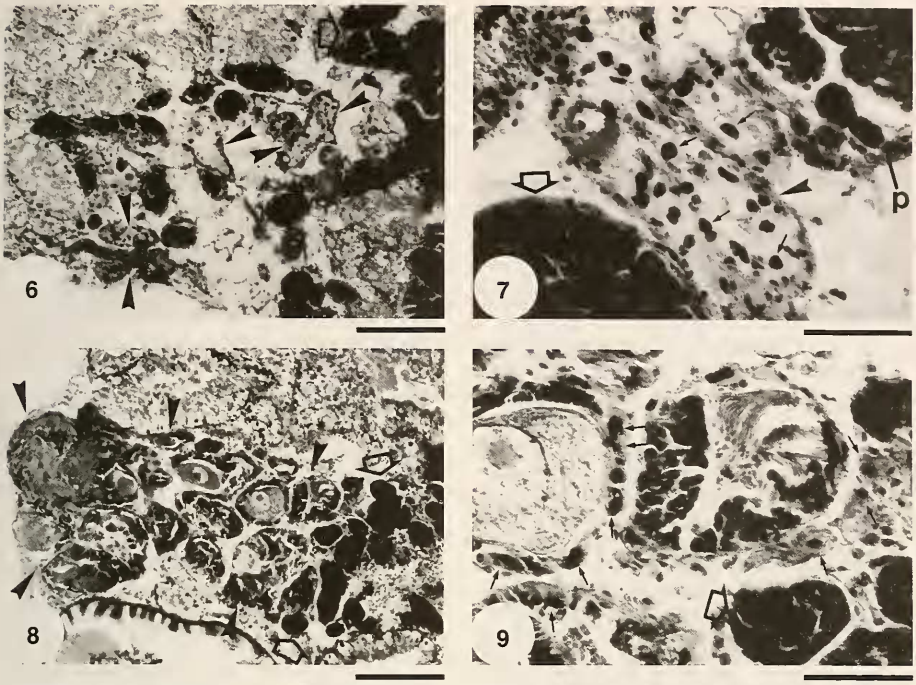
Los esporocistos secundarios hallados en *C. cespitum arigonis* (Fig. 3) son de mayor tamaño que los encontrados en *C. virgata* y, además, su grado de desarrollo está más avanzado (en algunos las masas germinales empiezan a diferenciarse constituyendo esbozos de cercarias) y su migración al resto de la glándula digestiva ha progresado más. Éstas pueden ser algunas de las razones que explican el menor volumen ocupado por los parásitos en *C. virgata*.

De los resultados experimentales anteriormente expuestos se deduce que *C. virgata* es una especie menos adecuada como H. I. de *D. dendriticum* que *C. cespitum arigonis*, ya que la infestación se detectó en la primera en un número inferior de moluscos (lo que concuerda con lo observado en la naturaleza) y, además, el desarrollo del parásito fue más lento.

En ambas especies, los esporocistos están localizados entre los túbulos de la glándula digestiva y entre aquéllos y la gónada, asentándose así en el paso directo de nutrientes desde la glándula digestiva a la gónada (Fretter y Graham, 1962; Aruna, Shima y Muley, 1986; Aruna y Rao, 1984; Choubisa, 1988).

**Alteraciones de la glándula digestiva en animales parasitados**: Los cambios histopatológicos de la glándula digestiva de moluscos, asociados a la infestación de trematodos digeneos han sido descritos por varios autores (James, 1965; Yoshino, 1976; Bouix-Bouisson, Rondelaud y Barthe, 1985a; Huffman y Fried, 1985; Choubisa, 1990; Sindou, Rondelaud y Barthe, 1990) e incluyen una disminución de la altura de las células epiteliales con el consiguiente aumento de la luz del túbulo digestivo, una necrosis de túbulos digestivos con disminución en su número, y una atrofia drástica de los mismos. Estas alteraciones son más notorias en las fases de redia y cercaria, cuando el parásito puede inflingir un daño mecánico directo sobre los túbulos. En nuestro estudio hemos podido observar animales con túbulos digestivos en los que la luz tubular está dilatada (Figs. 4, 5). No obstante, el estudio realizado para los cinco parámetros planimétricos ha reflejado que las diferencias observadas con respecto a los animales testigo no son estadísticamente significativas ($p >> 0,05$). La ausencia de una aparente deformación en los túbulos digestivos en el caso estudiado, podría ser debida a que nos encontramos en una fase temprana de la parasitación, ya que los esporocistos secundarios de *D. dendriticum* están muy poco desarrollados y todavía no albergan cercarias maduras.

Otra alteración histopatológica observada en nuestro estudio consiste en la presencia de una infiltración hemocítica importante en la mitad de los ejemplares de *C. cespitum arigonis*, así como en los ejemplares 1 y 2 de *C. virgata*. Esta infiltración hemocítica no generalizada, está restringida a algunas zonas del complejo tisular estudiado. En dichas zonas, los




Figuras 6, 7. *Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis*. 6: vista general del complejo glándula digestiva-gónada de un molusco parasitado. 7: detalle de un acino gonadal de un caracol infestado, con ausencia casi total de células de la línea germinal. Figuras 8, 9. *Cernuella (Cernuella) virgata*. 8: vista general del complejo glándula digestiva-gónada del molusco número 2 infestado con *D. dendriticum*. 9: detalle del mismo ejemplar mostrando los acinos gonadales más próximos al parásito, que aún contienen gametos maduros y en formación.
Las flechas anchas señalan al parásito; las puntas de flecha indican los acinos gonadales; las flechas pequeñas indican las células eosinófilas de grandes núcleos heterocromáticos; p: pared del esporocisto secundario de *D. dendriticum*. Escalas, 6, 8: 200 µm; 7, 9: 50 µm.
*Figures 6, 7.* Cernuella (Xeromagna) cespitum arigonis. *6: general view of the digestive gland-ovotestis complex in an infected snail. 7: detail of a gonadal acinus in a parasitized snail, lacking germinal cells almost completely. Figures 8, 9.* Cernuella (Cernuella) virgata. *8: general view of the digestive gland-ovotestis complex in snail number 2 infected by* D. dendriticum. *9: detail of the same specimen showing gonadal acines closest to the parasite, which still contain mature and formating gametes. Scale bars, 6, 8: 200 µm; 7, 9: 50 µm.*
*Wide arrows show the parasite; points of arrows show gonadal acines; small arrows show eosinophylous cells with great heterochromatic nuclei; p:* D. dendriticum *secondary sporocyst wall.*

hemocitos envuelven totalmente los esporocistos, provocando un menor desarrollo de los mismos e, incluso, su encapsulación (Fig. 4). Otras alteraciones constatadas son la vacuolización del citoplasma de las células de calcio y un aumento de lipofuscinas en las células digestivas (Fig. 5).

**Alteraciones de la gónada en animales parasitados**: En los ejemplares de *C. cespitum arigonis* infestados con *D. dendriticum* se observa una casi total castración parasitaria, de forma que el volumen gonadal se encuentra muy reducido (0,1 - 0,4 mm de diámetro máximo de los acinos frente a 0,4 - 0,8 mm en los testigos) y existen pocas células dentro de los acinos (Figs. 6, 7). En todos ellos, los estadíos de espermatogonias y espermátidas han desaparecido, mientras que los espermato-